

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number: **01258669 A**

(43)Date of publication of  
application: **16. 10 . 89**

(51)Int. Cl **C07D311/40**  
**C07D311/36**  
**C07H 17/07**

(21)Application number: **63083185**

(22)Date of filing: **06 . 04 . 88**

(71)Applicant: **KIKKOMAN CORP**

(72)Inventor: **OBATA AKIO**  
**MATSUURA MASARU**  
**HASHIMOTO HIKOTAKA**

**(54)PRODUCTION OF ISOFLAVON  
COMPOUND**

**(57)Abstract:**

**PURPOSE:** To inexpensively obtain a large amount of aglycones from an extracted solution or ground substance of soybeans, by heating soybeans or ground soybeans at a specific temperature in immersion, grinding and/or enzyme reaction process to maximize  $\beta$ -glucosidase activity in soybeans.

**CONSTITUTION:** In producing an isoflavon compound having estrogen action, antioxidation action, antihemolytic action, antilipemic action, cholesterol-lowering

action and carcinostatic action from an extracted solution of soybeans or a ground material thereof, soybeans or the ground material is heated to 45-55°C in one process of immersion process, grinding process and enzyme reaction process after grinding to maximize  $\beta$ -glucosidase in the soybeans to give an isoflavon compound containing a large amount of aglycones such as daizein or genistein which is a main substance of medicinal effects such as carcinostatic action among isoflavon compounds and has extremely high utility.

**COPYRIGHT:** (C)1989,JPO&Japio

## ⑫ 公開特許公報(A)

平1-258669

⑤Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬公開 平成1年(1989)10月16日

C 07 D 311/40

7375-4C

311/36

7375-4C

C 07 H 17/07

7417-4C 審査請求 未請求 請求項の数 1 (全4頁)

⑭発明の名称 イソフラボン化合物の製造法

⑮特 願 昭63-83185

⑯出 願 昭63(1988)4月6日

|        |            |     |                 |
|--------|------------|-----|-----------------|
| ⑰発明者   | 小 幡        | 明 雄 | 千葉県野田市宮崎101番地2号 |
| ⑰発明者   | 松 浦        | 勝   | 千葉県野田市宮崎45      |
| ⑰発明者   | 橋 本        | 彦 亮 | 千葉県野田市中根15-6    |
| ⑰出 願 人 | キッコーマン株式会社 |     | 千葉県野田市野田339番地   |

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

イソフラボン化合物の製造法

## 2. 特許請求の範囲

大豆抽出液あるいは大豆磨砕物からイソフラボン化合物を製造するに際し、大豆中の $\beta$ -グルコシダーゼ活性が最大となるように、浸漬工程、磨砕工程あるいは磨砕後の酵素反応工程のいずれか、あるいは2以上の工程において、大豆あるいは大豆磨砕物を45～55℃に加熱することを特徴とするイソフラボン化合物の製造法。

## 3. 発明の詳細な説明

## ＜産業上の利用分野＞

本発明は大豆からイソフラボン化合物、特にそのアグリコン類を多量に含むイソフラボン化合物の製造法に関するものである。

## ＜従来の技術及び問題点＞

大豆にはダイジン、グリシチン、ゲニステイン、ダイセイイン、ゲニステイン等のイソフラボン化合

物が含まれており、その生理活性作用はエストロゲン作用、抗酸化、抗溶血作用、抗菌作用、抗脂血、抗コレステロール作用が知られており、また最近ではガン細胞の分化誘導作用、ガン遺伝子阻害作用等、制ガン効果も確認され、その有用性が注目されている。

これらイソフラボン化合物のうち制ガン作用等の医薬的な効果は配糖体ではなく、ダイセイイン、ゲニステイン等のアグリコンが主となっている。

大豆の抽出液からイソフラボン化合物を得る方法として、例えば特開昭62-126186号公報が挙げられているが、大豆中では95%以上が配糖体として存在している為、この方法によって得られるイソフラボン化合物は配糖体が主体となり、アグリコンは極めて少量しか得ることはできない。

## ＜問題点を解決するための手段＞

本発明者等はイソフラボン化合物のうちでも有用性が極めて高いアグリコンを安価かつ大量に得る方法について検討したところ、大豆のイソフラボンは大豆中の $\beta$ -グルコシダーゼの作用により

容易に糖結合を切断し、そのアグリコンへ変換すること、その変換は50℃、pH 6.3で最大となるという知見を得た。

本発明はこの様な知見に基づき成されたものであって、大豆抽出液あるいは大豆磨砕物からイソフラボン化合物を製造するに際し、大豆中のβ-グルコシダーゼ活性が最大となるように、浸漬工程、磨砕工程あるいは磨砕後の酵素反応工程のいずれか、あるいは2以上の工程において、大豆あるいは大豆磨砕物を45～55℃に加熱することを特徴とするイソフラボン化合物の製造法である。

以下、本発明を具体的に説明する。

原料となる大豆は酵素の失活していないものならば、どの様なものでもよく、例えば低変性脱脂大豆粉、ひき割り大豆、脱皮大豆、丸大豆等を用いることができる。

これらの大豆の抽出液からイソフラボン化合物を製造するには、大豆を5～10倍の45～55℃の温水に浸漬し、その浸漬水を抽出液として精製原料とするが、浸漬水はダイセイソンの比率が大豆

を得る方法である。

もう一方は精製用原料の粉末化物を含水アルコールでイソフラボン化合物を環流抽出し、その抽出液を常法により濃縮、乾固させ、それを少量の含水アルコールに溶解し、これを逆相系の樹脂、例えばYMC-GEL ODS-A タイプ60-01 (特山村化学研究所製) やダイヤイオンHP-20 (三菱化成工業製) などに吸着させた後、十分水洗し、20%程度の含水アルコールでフェノール酸を溶出させ、次いで80%含水アルコールでアグリコンを豊富に含むイソフラボン化合物区分を得る方法である。又、水洗の後、40%程度の含水アルコールで配糖体画分を流出させれば、80%含水アルコールの溶出により、アグリコン区分のみを得ることもできる。

尚、ここで用いられる逆相系の樹脂は有機溶媒、例えばアルコール系、アセトン系等で洗浄再生が容易であり、繰り返し利用できる。

又、精製用原料を粉末化しないで直接樹脂に吸着させて精製することも可能であり、浸漬水の場

中よりも10%程度多くなるので、好適な精製原料と成り得る。

また大豆の磨砕物からイソフラボン化合物を製造する場合には、上記の様に浸漬した大豆を浸漬水と共に磨砕するか、あるいは常温水で浸漬して、その浸漬大豆を45～55℃で磨砕するか、あるいは磨砕後45～55℃に加熱して酵素反応させればよいが、好適には浸漬を45～55℃で行ない、これを浸漬水と共に45～55℃で磨砕し、得られた磨砕物を45～55℃に数時間保持する。こうすることにより大豆中のアグリコンの比率が大きく上昇する。

こうして得られた大豆抽出液あるいは大豆磨砕物を精製原料として用いるが、イソフラボン化合物の精製は2通りの方法がある。

1つは溶媒による精製で精製用原料、即ち大豆浸漬水あるいは大豆磨砕物を熱風乾燥、凍結乾燥等により粉末化し、これをn-ヘキサンあるいは石油エーテルで脱脂し、その残渣を乾燥後エチルエーテルで抽出してイソフラボンアグリコンのみ

合には、そのまま、又磨砕物の場合には常法により濾過した濾液あるいは遠心分離した上澄液を逆相系の樹脂に接触させ、以下上記と同様に精製する。

以下、実験例を示し本発明の効果を説明する。

#### 実験例1

脱皮大豆を5倍量の20～80℃の水に6時間浸漬し、その浸漬水と浸漬大豆を直ちに冷却、凍結させる。それを凍結乾燥機にて乾燥、粉末化し、その一定量を80%メタノールで環流抽出し、定容したものの一定量を高速液体クロマトグラフィ- (Waters社209D型) にて分析した。

結果を第1表に示す。

第 1 表

| 浸漬温度    | アグリコン率 (%) |         |         |         |
|---------|------------|---------|---------|---------|
|         | 浸漬大豆 + 浸漬水 |         | 浸 漬 水   |         |
|         | ゲニステイン*    | ダイゼイン** | ゲニステイン* | ダイゼイン** |
| 20 (°C) | 3          | 5       | —       | —       |
| 30      | 8          | 8       | —       | —       |
| 40      | 14         | 16      | 20      | 36      |
| 45      | 18         | 24      | 23      | 39      |
| 50      | 23         | 29      | 24      | 40      |
| 55      | 21         | 26      | 33      | 45      |
| 60      | 12         | 15      | 18      | 36      |
| 70      | 6          | 7       | —       | —       |
| 80      | 4          | 4       | —       | —       |

$$* \frac{\text{ゲニステイン (mg)}}{\text{ゲニステイン (mg)} + \text{ゲニスチン (mg)}} \times 100$$

$$** \frac{\text{ダイゼイン (mg)}}{\text{ダイゼイン (mg)} + \text{ダイジン (mg)}} \times 100$$

実験例 1、2 の結果から明らかな様に浸漬温度 45 ~ 55 °C で、又浸漬水の pH 6.3 でイソフラボンアグリコンへの変換が最大となる。

#### < 実施例 >

以下に実施例を示す。

#### 実施例 1

脱皮大豆を 5 kg を 50 °C の温水 25 ℓ 中に浸漬し、50 °C で保温しながら 2 時間浸漬した。

次いで、その浸漬水をエボレーターにて濃縮、乾固し、精製原料 450 g を得た。これをソックスレー抽出器を使い、n-ヘキサンにて脱脂した。次いで、その残渣を十分乾燥した後、エチルエーテルにて抽出し、イソフラボンのアグリコン 0.5 g を得た。

#### 実施例 2

実施例 1 と同様に浸漬した脱皮大豆を浸漬水と共に 50 °C にて磨砕し、その磨砕物を 50 °C、1 時間保持したものを凍結乾燥機にて乾燥、粉末化し、精製原料 4.1 kg を得た。これを実施例 1 と同様に、n-ヘキサンによる脱脂、エチルエーテル

#### 実験例 2

脱皮大豆を pH 5.5 ~ 11 に調整した 5 倍量の 50 °C の温水に 2 時間浸漬し、その浸漬水を pH を酸性にして後、直ちに 0.45 μm のフィルターにて濾過後、実験例 1 と同様に高速液体クロマトグラフィーにて分析した。

結果を第 2 表に示す。

第 2 表

| 浸漬水 pH | アグリコン率 (%) |       |
|--------|------------|-------|
|        | ゲニステイン     | ダイゼイン |
| 5.5    | 33         | 42    |
| 6.3    | 39         | 43    |
| 6.9    | 35         | 39    |
| 8.0    | 33         | 35    |
| 9.0    | 19         | 23    |
| 10.0   | 17         | 20    |
| 11.0   | 15         | 16    |

によるアグリコンの抽出を行ない、イソフラボンアグリコン 7.2 g を得た。50 °C の磨砕及びその温度での 1 時間保持によりアグリコン率は 60 % 以上になった。

#### 実施例 3

低変性脱脂大豆（日清ソーヤフラワー）10 kg に 50 °C の水、50 ℓ を加え、1 時間攪拌した。これをスプレードライにて熱風乾燥し、精製原料を得た。精製原料に対し 5 倍量の 80 % 熱メタノールによりイソフラボン類を抽出し、減圧乾固して粗イソフラボン画分 103 g を得た。これを少量のメタノールに再溶解し、充填剤として ODS-A タイプ 60-01（嵯山村化学研究所製）をつめた φ 70 mm × 100 cm のカラムに通して吸着させた。

次いで、40 % のメタノールでフェノール酸やイソフラボン配糖体画分を流出させ、除去し、次いで 80 % メタノールで溶出し、これを減圧乾固したところ、アグリコン 9.5 g を得た。

#### 実施例 4

脱皮大豆を実施例 1 と同様の方法で浸漬処理し

て得た浸漬水25 lに、合成吸着剤ダイヤイオンHP-20（三菱化成工業製）1 kgを加え、1時間攪拌しながら、イソフラボン化合物を吸着させた。次いで、その樹脂を濾別して、20 %のエタノールで洗浄してフェノール酸を除去し、次いで80 %エタノールで溶出させイソフラボン化合物を得た。これの減圧乾燥後の重量は1.1 gであった。このイソフラボン化合物中には約40 %のアグリコンが含有していた。

特許出願人      キャコーマン株式会社